

Les arbovirus isolés à partir de moustiques au Cameroun *

J.-J. SALAÛN,¹ A. RICKENBACH,² P. BRÈS,³ H. BROTTES,⁴ M. GERMAIN,⁵
J.-P. EOUZAN⁶ & L. FERRARA⁷

La présente enquête porte sur l'inventaire des vecteurs possibles d'arbovirus dans une région limitée autour de Yaoundé, capitale de la République Fédérale du Cameroun. Elle fait suite à des enquêtes similaires pratiquées en 1964-1965.

En 1966, 11 souches d'arbovirus — Simbu, Middelburg, Wesselsbron, Tataguine, Nkolbisson, virus apparenté à Eretmapodites 124 — ont été isolées et identifiées après inoculation au souriceau nouveau-né de 378 lots renfermant 30 065 moustiques femelles. Ainsi se trouve confirmée la richesse de la région en souches arbovirales déjà constatée en 1964-1965. La charnière de l'Afrique constitue donc un pôle d'intérêt évident car on y trouve des virus isolés à la fois en Afrique du Sud, en Afrique centrale et en Afrique de l'Ouest, ce qui n'a d'ailleurs rien d'étonnant en raison de l'importante diffusion géographique de certains virus. Ceux-ci seraient susceptibles d'effectuer un cycle, comme le laissent supposer les irrégularités constatées dans la séquence des isollements d'un virus déterminé. Enfin, les espèces culicidiennes suspectes sont nombreuses et variées mais concernent essentiellement Aedes et Eretmapodites, en particulier Eretmapodites groupe chrysogaster.

Le programme de recherche établi depuis 1964 dans le but de pratiquer l'inventaire des vecteurs possibles d'arbovirus dans la région du Centre Cameroun s'était soldé en 1965 par l'isolement de quatre types différents de virus: cinq souches de virus Ntaya, deux souches de virus Middelburg, deux souches de virus Bunyamwera, une souche de virus Spondweni (Brottes et al., 1966).

Notre travail, orienté suivant les mêmes principes et guidé suivant les mêmes méthodes, s'est poursuivi pendant l'année 1966, en attendant que des études

sérologiques et écologiques actuellement en cours nous permettent d'améliorer nos connaissances sur les cycles humains et animaux de cette catégorie de virus.

Les investigations ont porté sur la région de Yaoundé dans un rayon de 70 km autour de la ville (voir carte). Nous avons déjà décrit cette région dans un précédent article (Brottes et al., 1966). Signalons cependant que l'année 1966 a été particulièrement pluvieuse: les précipitations ont atteint 2126 mm alors que la moyenne est de 1600 mm.

Six localités ont fourni les lots positifs. Quatre d'entre elles présentent les caractères de forêt dégradée par l'homme décrits précédemment: Nkolbisson, Ofoumsek, Obout et Ebogo. A Obout, les captures ont été effectuées sur la berge du fleuve Nyong. Ototomo est une réserve forestière où prédomine l'« ayous », *Triplochiton scleroxylon*, une des espèces caractéristiques de la formation forestière des environs de Yaoundé. Cette dernière, capitale du Cameroun, est une ville en voie de croissance rapide, située dans un paysage de collines, à une altitude moyenne de 600-700 m; les quartiers résidentiels placés sur les « hauts » permettent l'occupation des

* Avec la collaboration technique de MM. J. Meno et M. Manang.

¹ Virologiste, Institut Pasteur du Cameroun, Yaoundé.

² Entomologiste, Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (ORSTOM), Institut Pasteur du Cameroun.

³ Virologiste, Directeur du Centre régional OMS de référence pour les arbovirus, Institut Pasteur de Dakar, Sénégal.

⁴ Virologiste, Directeur de l'Institut Pasteur du Cameroun.

⁵ Entomologiste, ORSTOM, Institut Pasteur du Cameroun.

⁶ Entomologiste, ORSTOM, Institut Pasteur du Cameroun.

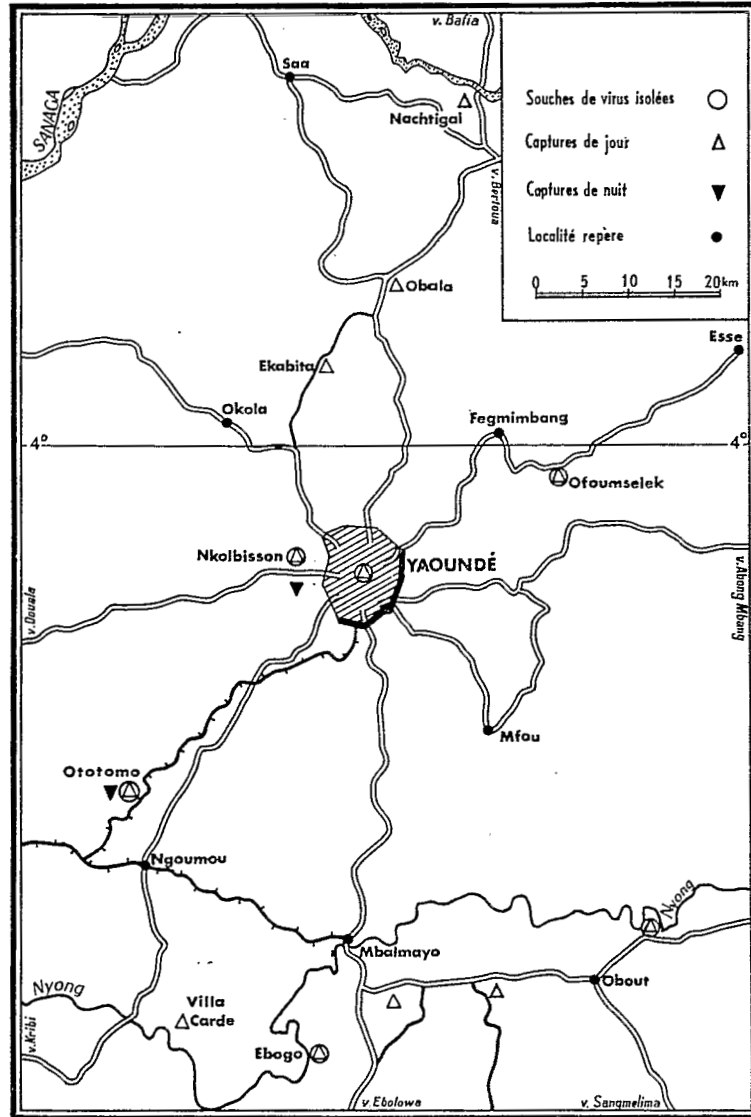
⁷ Technicien, ORSTOM, Institut Pasteur du Cameroun.

28 oct. 85
O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 18 741

Cote : BOK 4⁸⁰

POINTS DE CAPTURE DANS LA RÉGION DE YAOUNDÉ



zones basses, irriguées naturellement, par un nombre toujours plus grand d'habitations en semi-dur, disposées sans ordre, où l'entassement des habitants et le manque d'hygiène favorisent le développement de moustiques endophiles et anthropophiles.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Capture des moustiques

En dehors de Yaoundé, toutes nos captures ont été faites au niveau du sol et la plupart, de jour, au filet, dans la végétation basse sous forêt: 142 captures ont été effectuées dans ces conditions à raison de 2 à 4 par semaine, en utilisant de 7 à 9 captureurs.

Quelques captures de jour et de nuit sur appât humain en forêt ont été tentées. Elles ont toujours été extrêmement décevantes, l'anthropophilie des moustiques forestiers étant à peu près nulle, tout au moins au sol.

Douze captures ont été faites dans les cases africaines de Yaoundé, à la lampe électrique et au tube.

Tous les autres détails techniques sur les captures ainsi que ceux sur l'identification et la conservation des moustiques ont été donnés précédemment (Brottes et al., 1966).

Au total, 30 065 femelles représentant 63 espèces ou groupes d'espèces (tableau 1) ont été inoculées en 378 lots, ce qui représente une moyenne de 72 moustiques par lot.

Isolement et identification des virus

Les méthodes ont été décrites dans des articles précédents (Brottes et al., 1966; Brès & Chambon, 1963, 1964). Nous les résumons très brièvement: les moustiques sont broyés en milieu tamponné, phosphaté, albuminé à 0,75% et additionné de pénicilline et de streptomycine.

Nous utilisons pour l'inoculation deux portées de six souriceaux mâles, âgés de moins de 48 heures, de race albinos, Swiss, souche MLA. La durée d'observation des animaux inoculés est fixée arbitrairement à 14 jours pour des raisons de limitation de place, de personnel et de matériel. Ces mêmes raisons font qu'il n'est pas procédé à des passages aveugles. La voie mixte intracérébrale et intrapéritonéale sert à l'isolement. Les passages sont assurés par voie exclusivement intracérébrale.

Les études préliminaires ont porté sur le titrage et la filtration des souches (filtre Millipore de $Q_{22} \mu$ de porosité), la sensibilité au désoxycholate de sodium (Theiler, 1957) et à l'éther (Sunaga et al., 1960), et la recherche d'une éventuelle hémagglutinine

TABLEAU 1
NOMBRE DE FEMELLES INOCULÉES PAR ESPÈCE

Espèce	Nombre
<i>Aedes (Aedimorphus) groupe tarsalis</i> Newstead	1 631
<i>A. (A.) groupe domesticus</i> (Theobald)	656
<i>A. (A.) mutilus</i> Edwards	402
<i>A. (A.) argenteopunctatus</i> (Theobald)	14
<i>A. (A.) simulans</i> (Newstead et Carter)	819
<i>A. (A.) capensis</i> Edwards	123
<i>A. (A.) haworthi</i> Edwards	51
<i>A. (A.) groupe abnormalis</i> (Theobald)	133
<i>A. (A.) rickenbachi</i> (Hamon et Adam)	907
<i>A. (A.) cumminsii</i> (Theobald)	243
<i>A. (Finlaya) ingrami</i> Edwards	142
<i>A. (F.) longipalpis</i> (Grünberg)	29
<i>A. (Neomelaniconion) groupe palpalis</i> (Newstead)	1 613
<i>A. (N.) jamoti</i> Hamon et Rickenbach	90
<i>A. (N.) circumluteolus</i> (Theobald)	8
<i>A. (Pseudarmigeres) kummi</i> Edwards	722
<i>A. (Stegomyia) aegypti</i> (Linné)	1
<i>A. (S.) africanus</i> (Theobald)	131
<i>A. (S.) apicoargenteus</i> (Theobald)	73
<i>A. (S.) dendrophilus</i> Edwards	36
<i>A. (S.) fraseri</i> (Edwards)	5
<i>A. (S.) simpsoni</i> (Theobald)	903
<i>Culex (Culex) annulioris</i> Theobald	48
<i>C. (C.) moucheti</i> Evans	294
<i>C. (C.) guarti</i> Blanchard	446
<i>C. (C.) ingrami</i> Edwards	253
<i>C. (C.) weschei</i> Edwards	465
<i>C. (C.) faligans</i> Wiedemann	410
<i>C. (C.) groupe decens</i> Theobald	547
<i>C. (C.) telesilla</i> de Meillon et Lavoipierre	966
<i>C. (C.) pruina</i> Theobald	397
<i>C. (Culicomyia) nebulosus</i> Theobald	3 254
<i>C. (C.) cinereus</i> Theobald	3 372
<i>C. (C.) macfleri</i> Edwards	60
<i>C. (C.) cinerellus</i> Edwards	74
<i>C. (Lutzia) tigrisipes</i> Grandpré et Charmoy	107
<i>C. (Neoculex) albiventris</i> Edwards	1 419
<i>C. (N.) groupe rima</i> Theobald	256
<i>Culiseta (Theomyia) fraseri</i> (Edwards)	21
<i>Eretmapodites</i> groupe <i>chrysogaster</i> Graham	3 897
<i>E. groupe inornatus</i> Newstead	385
<i>E. groupe oedipodius</i> Graham	1 334
<i>E. leucopus</i> Graham	421
<i>E. plioleucus</i> Edwards ssp.	634
<i>Ficalbia (Mimomyia) flavopicta</i> Edwards	248
<i>Mansonia (Coquillettidia) pseudoconopas</i> (Theobald)	1 091
<i>M. (C.) maculipennis</i> (Theobald)	10
<i>M. (C.) groupe aurites</i> (Theobald)	1
<i>Uranotaenia alboabdominalis</i> Theobald	4
<i>U. annulata apicolaeniata</i> Theobald	73
<i>U. balfouri</i> Theobald	12
<i>U. bilineata</i> Theobald	146
<i>U. b. connali</i> Edwards	93
<i>U. caliginosa</i> Philip	11
<i>U. cavernicola</i> Mattingly	2
<i>U. chorleyi</i> Edwards	14
<i>U. mashonaensis</i> Theobald	330
<i>U. philonuxia</i> Philip	6
<i>U. henrardi</i> Edwards	9
<i>Anopheles (Anopheles) obscurus</i> (Grünberg)	8
<i>A. (A.) paludis</i> Theobald	4
<i>A. (Cellia) gambiae</i> Giles	182
<i>A. (C.) hargreavesi</i> Evans	29

TABLEAU 2
SOUCHES D'ARBOVIRUS ISOLÉES AU CAMEROUN EN 1966

N° du lot	Espèces inoculées	Provenance	Date de capture	Date d'inoculation	Souches	Réisolement
YM 23.66	66 <i>Eretmapodites</i> groupe <i>chrysogaster</i>	Nkolbisson	8.I.66 au 23.III.66	24.III.66	Simbu	9.IV.66 +
YM 40.66	16 <i>Aedes cummingsii</i>	Nkolbisson	23.XI.65 au 2.V.66	3.V.66	Middelburg	9.VI.66 +
YM 55.66	102 <i>Eretmapodites</i> groupe <i>chrysogaster</i>	Nkolbisson	24.III.66 au 15.V.66	18.V.66	Nkolbisson (YM 31.65)	+
YM 84.66	57 <i>Anopheles gambiae</i>	Yaoundé	2.VI.66	4.VI.66	Tataguine	14.X.66 +
YM 148.66	73 <i>A. mutilus</i> 3 <i>A. argenteopunctatus</i>	Nkolbisson	20.VI.66 au 13.VII.66	18.VII.66	Nkolbisson (YM 31.65)	+
YM 175.66	51 <i>Anopheles gambiae</i>	Yaoundé	6.VI.66 au 20.VII.66	23.VII.66	Tataguine	24.VIII.66 0
YM 176.66	<i>Aedes</i> spp. (lot mixte)	Ofoumselek	22.VII.66 au 29.VII.66	8.VIII.66	Souche à l'étude	+
YM 209.66	114 <i>A. groupe tarsalis</i>	Otomoto	26.V.66 au 30.VIII.66	2.IX.66	Wessels- bron	26.X.66 +
YM 257.66	17 <i>E. groupe chrysogaster</i> 5 <i>E. groupe oedipodius</i> 2 <i>E. leucopus</i>	Obout	20.IX.66	3.X.66	Nkolbisson (YM 31.65)	+
YM 274.66	74 <i>A. cummingsii</i>	Nkolbisson	15.IX.66 au 13.X.66	19.X.66	Nkolbisson (YM 31.65)	Non pratiqué
YM 310.66	12 <i>A. simulans</i> 4 <i>A. capensis</i> 5 <i>A. groupe abnormalis</i> 10 <i>A. rickenbachi</i> 5 <i>A. cummingsii</i> 6 <i>A. kummi</i> 1 <i>A. africanus</i> 2 <i>A. simpsoni</i> 2 <i>A. apicoargenteus</i>	Ebogo	21.X.66	19.XI.66	Wessels- bron	12.XII.66 +

(Porterfield & Rowe, 1960). L'identification proprement dite a été réalisée par inhibition de l'hémagglutination (Clarke & Casals, 1958), par fixation du complément et par séroneutralisation croisée.

En outre, nous avons étudié pour chacun des virus l'aspect des lésions histopathologiques cérébrales chez le souriceau et recherché l'éventuel pouvoir cytopathogène pour différents types de cultures cellulaires soit en lignée continue (KB ou HeLa), soit de première explantation (rein de singe, rein de hamster).

RÉSULTATS

Les 378 lots inoculés ont fourni 11 souches de virus (tableau 2):

- 1 souche de virus Simbu: YM 23.66;
- 1 souche de virus Middelburg: YM 40.66;
- 2 souches de virus Wesselsbron: YM 209.66 et YM 310.66;
- 2 souches de virus Tataguine: YM 84.66 et YM 175.66;

— 4 souches de virus (YM 55.66, YM 148.66, YM 257.66 et YM 274.66) étroitement apparentées entre elles et à nos isoléments YM 31.65. Ce virus semble différent des virus africains actuellement répertoriés et a reçu le nom de virus Nkolbisson;

— 1 souche, YM 176.66, qui pose encore des problèmes d'identification. Il s'agit d'un virus appartenant au groupe Nyando, probablement *Eretmapodites* 124.

Virus Simbu

Cette souche a été obtenue à partir d'un lot homogène d'*Eretmapodites* groupe *chrysogaster*. L'inoculation a entraîné une mortalité non spécifique importante; les survivants moururent au 6^e et au 7^e jour. Le cerveau de l'un d'eux présentant des signes d'atteinte nerveuse servit aux passages suivants. L'incubation se stabilisa à 3 jours et les phénomènes paralytiques devinrent de plus en plus nets. Les titres du virus atteignirent 10⁸/0,02 ml et ne furent pratiquement pas affectés par la lyophilisation ni par la filtration, mais ils diminuèrent d'environ 5 logarithmes sous l'action du désoxycholate de sodium et de l'éther.

Les essais en vue d'obtenir une hémagglutinine par extraction au saccharose-acétone furent infructueux; seule une préparation au fluorocarbène montra un très faible pouvoir hémagglutinant au 1/10 inutilisable en réaction d'IH. Les travaux d'identification se poursuivirent avec les cerveaux du 11^e passage en réactions de fixation du complément. Le criblage pratiqué avec l'antigène obtenu en saccharose-acétone a donné des résultats négatifs avec tous les sérums monospécifiques du Centre régional de référence pour les arbovirus de Dakar (Sénégal), sauf avec le sérum anti-Simbu.

a) Réactions croisées de fixation du complément:

Sérum	YM 23.66	Antigènes Simbu	Ingwavuma
YM 23.66	32/128*	32/128	0/0
Simbu	64/128	64/128	0/0
Ingwavuma	0/0	0/0	128/64

* Inverse du titre sérum/titre antigène.

b) Réactions croisées de séroneutralisation:

Sérum normal (log)	Virus		
	YM 23.66	Simbu	Ingwavuma
YM 23.66	3,5	3,8	0,8
Simbu	3,7	3,5	0,8
Ingwavuma	0	0,34	3,8

En conclusion: il s'agit d'une souche très voisine ou identique au virus Simbu.

Virus Middelburg

La souche a été fournie par un lot homogène de 16 *Aedes cummingsii*.

L'adaptation de la souche fut rapide avec un temps moyen de survie de 2 jours dès le 5^e passage. Les titres furent supérieurs à 10⁸,5/0,02 ml et les travaux d'identification furent poursuivis avec les cerveaux du 11^e passage.

Un bon antigène hémagglutinant fut obtenu par traitement au saccharose-acétone avec un titre de 1/1280 à pH 6,0. Après criblage, les réactions croisées d'inhibition de l'hémagglutination orientèrent le diagnostic et les réactions de fixation du complément le confirmèrent.

a) Réactions croisées d'IH:

Sérum	Antigènes (32 unités)	
	YM 40.66	Middelburg
YM 40.66	2560	1280
Middelburg	320	1280

b) Réactions de fixation du complément:

- réaction homologue: 128/8
- criblage: résultats négatifs sauf avec Middelburg: 1/16 (antigènes à 1/8 et 1/32, sérums du Centre de référence de Dakar)
- réactions croisées:

Sérum	Antigènes	
	YM 40.66	Middelburg
YM 40.66	128/8	128/8
Middelburg	32/8	32/8

En conclusion: cette souche est identique au virus Middelburg.

Virus Wesselsbron

Deux souches, YM 209.66 et YM 310.66, ont été isolées; la première provient d'un lot homogène d'*Aedes* groupe *tarsalis*, la deuxième d'un lot mixte d'*Aedes* spp.

L'isolement de ces deux souches fut relativement aisé et l'incubation se stabilisa à 4-5 jours au cours des passages. Les propriétés physico-chimiques et l'obtention d'une hémagglutinine orientèrent le diagnostic vers le groupe B des arbovirus et l'identification complète s'adressa aux cerveaux du 11^e passage.

a) Antigène HA:

Souche	pH optimal	Titre
YM 209.66	6,2	1/1280
YM 310.66	6,2	1/2560

b) Réactions d'IH (criblage):¹

Antigène	Sérum de référence									
	Gr. A	Gr. B	Gr. BUN	NTA	WESS	FJ	WN	UGS	ZIK	SPOND
YM 209.66 (16 unités)	0	256	0	0	640	0	40	0	0	20

c) Réactions croisées:

Sérum	Antigènes				
	YM 310.66	WESS	NTA	USU	WN
YM 310.66	≥2560	1280	640	80	640
WESS	640	≥2560	640	160	320
NTA	0	20	80	20	20
USU	320	640	640	640	320
WN	20	320	640	80	320

d) Réactions croisées de fixation du complément:

Sérum	Antigènes			
	YM 310.66	YM 209.66	WESS	USU
YM 310.66	256/8	32/32	128/8	0/0
YM 209.66	128/16	1024/128	1024/16	32/8
WESS	16/16	128/128	128/32	0/0
USU	0/0	0/0	0/0	32/16

e) Réactions croisées de séroneutralisation:

Sérum normal (log)	Virus			
	YM 310.66	YM 209.66	WESS	NTA
	-7,0	-8,3	-6,6	-5,0
Antisérums (indices)				
YM 310.66	2,5	1,7	<1,5	0,9
YM 209.66	2,9	5,8	>5,1	1,6
WESS	2,6	3,2	3,2	—
NTA	—	—	>2,5	—

En conclusion: la souche 209.66 est pratiquement identique à Wesselsbron; la souche 310.66 en est voisine, mais les réactions de fixation du complément et les résultats de l'épreuve de séroneutralisation semblent indiquer qu'elle en est moins proche que YM 209.66.

Virus Tataguine

Deux souches ont été identifiées comme telles, identiques à la souche originale du Sénégal (Brès et al., 1966). Elles proviennent toutes deux d'*Anopheles gambiae* récoltés dans la ville de Yaoundé. L'isolement simultané du même virus dans le sang d'un malade fébricitant, atteint de fièvre exanthématique, pose le problème du cycle urbain possible de ce virus. Cette hypothèse ainsi que les caractères d'identification de cette souche sont discutés dans un article qui relate par ailleurs les circonstances de ces isolations (Salaün et al., 1968).

¹ Les abréviations suivantes sont utilisées pour l'exposé des résultats: BUN = Bunyamwera; NTA = Ntaya; WESS = Wesselsbron; FJ = fièvre jaune; WN = West Nile; UGS = Uganda; ZIK = Zika; SPOND = Spondweni; USU = Usutu.

dans la région de Yaoundé; quatre de ces groupes ont déjà été discutés (Brottes et al., 1966): *Aedes* groupe *tarsalis*, *Aedes* groupe *domesticus*, *Aedes* groupe *palpalis* et *Eretmapodites* groupe *chrysogaster*. La fréquence des espèces y est la même qu'en 1964-65. Signalons cependant qu'il faut ajouter deux espèces rares au groupe *tarsalis*: *A. lottei* Hamon et Brengues et *A. falabreguesi* Hamon, et une espèce relativement peu fréquente au groupe *chrysogaster*: *E. brottesi* Rickenbach.

Deux autres groupes figurent dans les lots positifs: *Aedes* groupe *abnormalis*, les deux espèces les plus fréquentes étant *A. congolensis* Edwards et *A. eboensis* Rickenbach et Ferrara (respectivement 31 et 21 sur 68 dissections).

On trouve aussi, mais plus rarement: *A. wigglesworthi* Edwards, *A. tricholabis* Edwards, *A. mattinglyi* Hamon et Rickenbach et *Eretmapodites* groupe *oedipodius* Graham (106 sur 131 dissections).

Trois autres espèces apparaissent, mais rarement: *E. oedipodius wansoni* Edwards, *E. caillardi* Rickenbach, Ferrara et Eouzan, et *E. salauni* Rickenbach, Ferrara et Eouzan.

Le virus Simbu a été isolé pour la première fois en 1955 à partir d'un lot d'*Aedes circumluteolus* dans le nord de la province du Natal (Weinbren et al., 1957). Un autre isolement a été réalisé ultérieurement dans la même région et à partir du même vecteur (Brooke Worth et al., 1961). Aucune souche d'origine humaine n'a encore été détectée et l'incidence des anticorps chez l'homme est pratiquement nulle sur les quelques échantillons testés en Afrique du Sud (Smithburn et al., 1959). A notre connaissance, c'est la première fois que l'on rencontre à nouveau ce virus en dehors de sa contrée d'origine. Aucune étude sérologique n'a encore été entreprise parmi la population humaine ou animale du Centre Cameroun à son sujet. Son isolement ici à partir d'*Eretmapodites* du groupe *chrysogaster* paraît confirmer l'aptitude d'une ou plusieurs espèces de ce groupe à héberger des arbovirus. C'est en effet la quatrième fois depuis 1964 que nous isolons un virus de ce groupe de moustiques: Spondweni (Brottes et al., 1966), Okola (Brottes et al., 1969), Nkolbisson (Salaün et al., 1969) et Middelburg; deux autres souches ont été isolées de lots mixtes où figuraient des *Eretmapodites* du groupe *chrysogaster*.

Le virus Middelburg, lui aussi d'origine sud-africaine, a été isolé de plusieurs espèces d'*Aedes* (Kokernot et al., 1957; Brooke Worth et al., 1961). Son isolement ici à partir d'*A. cumminsi* n'a rien de surprenant, cette espèce ayant déjà été impliquée

dans un isolement d'arbovirus au Tongaland: virus Spondweni (MacIntosh et al., 1961). En 1964, nous avons identifié deux souches du même virus, l'une en provenance d'un lot de *Mansonia africana*, l'autre d'un lot hétérogène comprenant en majorité des *Eretmapodites* du groupe *chrysogaster* et des *Aedes* du groupe *tarsalis*. Son existence est suspectée chez le bétail, en particulier chez les moutons qui ont présenté des séroconversions; par contre, des enquêtes menées parmi les populations du Natal, de Mozambique et de l'Angola ont montré que les anticorps spécifiques étaient pratiquement absents chez l'homme. Un sondage effectué au Cameroun aboutit aux mêmes constatations (Salaün & Brottes, 1967). Smithburn et al. (1959) notaient déjà cette très faible incidence de positivité parmi les sérums humains dans les zones mêmes où le virus avait été isolé des moustiques.

L'isolement initial du virus Wesselsbron provient d'un agneau mort-né au cours d'une épizootie d'avortement sévissant dans l'Etat d'Orange, en Afrique du Sud, en 1955 (Weiss et al., 1956). Des études ultérieures ont montré qu'il était responsable d'avortement habituel chez la brebis et l'agent d'épizooties sévères parmi les troupeaux. Smithburn et al. (1957), Kokernot et al. (1960) et Brooke Worth et al. (1961) l'ont isolé au Tongaland et dans la province du Cap de 7 espèces de moustiques appartenant aux genres *Aedes* (dont une espèce du groupe *tarsalis*: *A. minutus*), *Culex* et *Mansonia*. L'incidence sérologique est élevée chez l'homme en milieu épizootique comme l'ont montré des sondages effectués par des épreuves de séroneutralisation parmi les résidents du Tongaland et des provinces limitrophes du Mozambique. Par ailleurs, cet agent est connu pour provoquer assez facilement des infections de laboratoire parfois sévères (Brès, 1965).

Kokernot écrivait dès 1960 que la grande diversité de moustiques trouvés naturellement infectés laissait prévoir une large distribution du virus et qu'il n'était pas présomptueux d'anticiper que l'activité de Wesselsbron serait détectée dans d'autres régions que l'Afrique du Sud. Nos isolations viennent confirmer cette prévision avec d'autant plus de certitude que deux autres souches nous ont été fournies par des moustiques capturés au début de 1967; notons que l'une de ces souches est issue de nouveau d'un lot d'*Aedes* du groupe *tarsalis*, ce qui porte à trois, avec celui de Brooke Worth et al. (1961); le nombre d'isollements du virus à partir d'espèces de ce groupe. L'importance du cycle humain de ce virus au Cameroun ne peut actuelle-

DISCUSSION

En 1966, nous constatons que les promesses de 1964-65 ont été tenues: nos récoltes de moustiques sont bien pauvres par rapport à celles de Belem ou de la Trinité, par exemple, mais notre taux d'isolement de 1/2000 est 4,5 fois supérieur à celui de la Trinité entre 1953 et 1958, période pendant laquelle près de 850 000 moustiques avaient été inoculés (Woodall, 1964).

La validité de ces différents isollements ne paraît pas devoir être mise en doute. En effet, au moment des inoculations et des premiers passages, ni le virus Simbu, ni le virus Wesselsbron, ni le virus Tataguine, n'existaient au laboratoire dans notre collection de souches de référence. Seule, notre première souche Middelburg, isolée au début de 1964, avait servi à la préparation d'un antigène qui était inclus en routine dans notre gamme sérologique d'enquête. D'autre part, le réisolement obtenu dans tous les cas, sauf pour une des deux souches de virus Tataguine, apporte un argument de poids en faveur de cette validité.

Nos isollements ont été réalisés dans plusieurs cas à partir de lots mixtes ou de groupes d'espèces. Les lots mixtes ont été composés dans les localités que nous ne prospectons que rarement (Obout et Ebogo), ou bien (à Ofoumsek) parce que nous étions à la fin d'une série de captures.

Les groupes d'espèces concernent essentiellement *Aedes* et *Eretmapodites*. Six groupes sont impliqués dans nos isollements. La dissection des mâles nous indique la composition probable de chaque groupe

ment être évaluée, car aucune enquête sérologique n'a eu lieu à son sujet.

Le virus Tataguine, isolé pour la première fois au Sénégal en 1962 (Brès et al., 1966) à partir d'un lot mixte de *Culex* et d'*Anopheles* non déterminés, a été retrouvé ici au Cameroun, non seulement dans la ville de Yaoundé à partir d'*Anopheles gambiae*, mais également dans le sang d'un malade européen atteint de fièvre accompagnée d'un rash éruptif. Un isolement sur l'homme a été réalisé dans les mêmes circonstances à Bangui, en République Centrafricaine (Digoutte, communication personnelle, 1967).

Le fait le plus remarquable dans nos résultats est que, depuis 1964, nous nous sommes trouvés confrontés au fur et à mesure de nos isolements avec plusieurs des principaux virus sud-africains « historiques », c'est-à-dire ceux ayant fait l'objet des premiers isolements d'arbovirus dans cette partie du continent: Middelburg, Spondweni, Wesselsbron et Simbu.

Par ailleurs, nous avons eu l'occasion de rencontrer des virus connus dans l'Est Africain, comme Bunyamwera et Ntaya, et de retrouver le virus Tataguine isolé loin au nord dans la partie occidentale du continent. Cette récolte effectuée dans un cercle de 80 km de rayon au Centre Cameroun démontre le gros intérêt de cette région située à la « charnière » de l'Afrique où viennent interférer à très peu de distance plusieurs types de climat et de végétation. La répartition géographique des arbovirus semblant assez bien délimitée, au début de son étude, aux régions de primo-isolements paraît de plus en plus difficile à définir au fur et à mesure de leur prospection. Il n'est que de rappeler l'exemple du virus West Nile primitivement décrit en Ouganda et retrouvé par étapes successives au Moyen-Orient, en Afrique Centrale, dans le sud de l'Afrique, en Asie du Sud-Est et enfin dans le sud de la France et de la Russie d'Europe.

De même, le virus chikungunya, considéré primitivement comme spécifiquement africain, se révèle être un des agents de redoutables fièvres hémorragiques au sud-est asiatique. Sans doute existe-t-il des variantes géographiques du même virus et les techniques sérologiques commencent à pouvoir les distinguer, venant ainsi au secours de l'épidémiologiste.

En ce qui concerne le virus West Nile, nous savons que ces sauts à travers l'espace peuvent en partie

s'expliquer par le fait qu'il s'agit d'une zoonose aviaire et l'on conçoit facilement que l'agent puisse être transporté à de très longues distances par l'intermédiaire des oiseaux migrateurs.

Mais il faut bien reconnaître que nous sommes encore dans l'ignorance quasi totale du cycle naturel de ces arbovirus, ne serait-ce que celui du chef de file: le virus de la fièvre jaune en Afrique. Dans tous les cas, il paraît bien s'agir de zoonoses (Chastel, 1967) éventuellement et rarement transmises à l'homme; l'entretien du virus est assuré indépendamment de ce dernier, dans des « foyers naturels d'infection » (Pavlovsky, 1956), par l'intermédiaire de cycles habituels ou occasionnels entre des animaux sauvages et des vecteurs zoophiles. Cette opinion est appuyée par les résultats de tests de précipitines faits pour nous par le Lister Institute of Preventive Medicine, de Londres, sur les moustiques gorgés, capturés au filet dans leurs lieux de repos. En effet, sur près de 800 moustiques testés, deux seulement étaient positifs pour l'homme. La grande majorité (près de 600) étaient positifs pour les primates autres que l'homme, les bovidés non domestiques ou les oiseaux.

Bien que la faune culicidienne reste relativement stable dans la région de nos captures, il faut remarquer l'irrégularité dans la séquence des isolements d'un virus déterminé (un tel phénomène avait déjà été noté par Brooke Worth et al. (1961) dans des investigations analogues). Par exemple, il a fallu attendre deux ans pour voir réapparaître le virus Middelburg, et les cinq souches de virus Ntaya de 1964 ne laissaient pas prévoir l'éclipse soudaine de ce virus dont on vient de rencontrer de nouveau une souche au début de 1967. Nous ne pensons pas que ces disparitions et réapparitions soudaines soient le reflet de variations dans l'échantillonnage de la population culicidienne dans nos captures car, pour reprendre l'exemple du virus Ntaya qui a toujours été isolé de *Culex*, la proportion de femelles de ce genre par rapport au nombre total de femelles capturées a été sensiblement la même en 1966 et en 1964, avec les mêmes espèces. Peut-être, dans ces foyers naturels, le virus a-t-il à sa disposition plusieurs sortes de cycles qu'il emprunte suivant les conditions écologiques du lieu et du moment, dans des zones très limitées, et ce ne serait qu'occasionnellement qu'il entrerait dans le cycle des moustiques.

SUMMARY

ARBOVIRUSES ISOLATED FROM MOSQUITOS IN CAMEROON

In 1966 the Virology Section of the Pasteur Institute of Cameroon continued its survey of arbovirus vectors within a radius of 80 km of Yaoundé. The vectors were caught mostly in the forest by day, with a net at soil level. A total of 30 065 female mosquitos was caught and these were divided into 378 lots for inoculation into new-born mice.

The viruses were subsequently identified by their physico-chemical properties and the usual serological reactions, inhibition of haemagglutination, complement fixation and serum neutralization. By these methods, 11 strains of virus were isolated: 1 strain of Simbu virus, 1 strain of Middelburg, 2 of Wesselsbron, 2 of Tataguine, 4 strains of what seems to be a new type of virus, for which we have sought to register the name Nkolbisson, and 1 strain not yet definitely identified but which appears to resemble Eretmapodites 124.

The results of the present study confirm those of the

studies in 1964-65, particularly in respect of the large number of viruses found, the variety of the local culicine fauna, and the ability of mosquitos of the *Eretmapodites* group *chrysogaster* to harbour different arboviruses. Above all the results showed that within 80 km of Yaoundé it was possible to isolate viruses that were first found in South Africa, such as Middelburg, Spondweni, Wesselsbron and Simbu, other viruses from East Africa, such as Bunyamwera and Ntaya and another, Tataguine, from Dakar. Doubtless there exist some geographical variants, as in the cases of the West Nile and Chikungunya viruses.

Although the culicine fauna has remained fairly stable in this area, the isolation of some strains of virus has been irregular. This suggests that the viruses may be able to circulate in different natural cycles and thus may appear only occasionally in mosquitos.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Brès, P. (1965) *Bull. Soc. Path. exot.*, 58, 994
 Brès, P. & Chambon, L. (1963) *Ann. Inst. Pasteur*, 104, 705
 Brès, P. & Chambon, L. (1964) *Ann. Inst. Pasteur*, 107, 34
 Brès, P., Williams, M. C. & Chambon, L. (1966) *Ann. Inst. Pasteur*, 111, 585
 Brooke Worth, C., Paterson, H. E. & Meillon, B. de (1961) *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 10, 583
 Brottes, H., Rickenbach, A., Brès, P., Salaün, J.-J. & Ferrara, L. (1966) *Bull. Org. mond. Santé*, 35, 811
 Brottes, H., Rickenbach, A., Brès, P., Salaün, J.-J. & Ferrara, L. (1969) *Ann. Inst. Pasteur*, 116, 543
 Chastel, C. (1967) *Rev. Hyg. Méd. soc.*, 15, 307
 Clarke, D. & Casals, J. (1958) *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 7, 561
 Heymann, C. S., Kokernot, R. H. & Meillon, B., de (1958) *S. Afr. med. J.*, 32, 543
 Kokernot, R. H., Meillon, B. de, Paterson, H. E., Heymann, C. S. & Smithburn, K. C. (1957) *S. Afr. J. med. Sci.*, 22, 145
 Kokernot, R. H., Smithburn, K. C., Paterson, H. E. & Meillon, B. de (1960) *S. Afr. med. J.*, 34, 871
 MacIntosh, B. M., Kokernot, R. H., Paterson, H. E. & Meillon, B. de (1961) *S. Afr. med. J.*, 35, 647
 Pavlovski, E. N. (1956) In: Blaskovic, D. *Epidemic of encephalitis in the Roavana natural focus of infections*, Bratislava, Académie des Sciences de Slovaquie •
 Porterfield, J. S. & Rowe, C. E. (1960) *Virology*, 11, 765
 Salaün, J.-J., Brès, P. & Brottes, H. (1968) *Bull. Soc. Path. exot.*, 61, 301
 Salaün, J.-J. & Brottes, H. (1967) *Bull. Org. mond. Santé*, 37, 343
 Salaün, J.-J., Rickenbach, A., Brès, P., Brottes, H., Germain, M., Eouzan, J.-P. & Ferrara, L. (1969) *Ann. Inst. Pasteur*, 116, 254
 Salaün, J.-J., Rickenbach, A., Brès, P., Germain, M., Eouzan, J.-P. & Ferrara, L. (1968) *Bull. Soc. Path. exot.*, 61, 301
 Smithburn, K. C., Kokernot, R. H., Heymann, C. S., Weinbren, M. P. & Zentkowski, D. (1959) *S. Afr. med. J.*, 33, 555
 Smithburn, K. C., Kokernot, R. H., Weinbren, M. P. & Meillon, B. de (1957) *S. Afr. J. med. Sci.*, 22, 113
 Sunaga, H., Taylor, R. M. & Henderson, J. R. (1960) *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 9, 419
 Theiler, M. (1957) *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)*, 96, 380
 Weinbren, M. P., Heymann, C. S., Kokernot, R. H. & Paterson, H. E. (1957) *S. Afr. J. med. Sci.*, 22, 93
 Weiss, K. E., Haig, D. A. & Alexander, R. A. (1956) *Onderstepoort J. vet. Res.*, 27, 183
 Woodall, J. P. (1964) *Proc. E. Afr. Acad.*, 2, 141